

Е.А. Строев, В.Г. Макарова, И.В. Матвеева

ПРАКТИКУМ ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Учебное пособие

*Рекомендовано Учебно-методическим объединением
по медицинскому и фармацевтическому образованию
вузов России в качестве учебного пособия для студентов,
обучающихся по специальностям высшего
профессионального образования группы Здравоохранение*



Медицинское информационное агентство

Москва

2012

УДК 616-071:577.1(075.8)
ББК 53.4я73
С83

С83 **Строев Е.А.**, **Макарова В.Г.**, **Матвеева И.В.**
Практикум по биологической химии: Учебное пособие. —
М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное
агентство», 2012. — 384 с.

ISBN 978-5-9986-0045-6

Практикум содержит перечень лабораторных работ, позволяющий студентам приобрести навыки биохимических исследований, необходимых в учебно-исследовательской и практической работе. Представлены унифицированные и экспресс-методы, скрининг-тесты, применяемые в клинике и фармации. Изложены приемы получения и обработки биологического материала, перечень приборов и оборудования, приведены таблицы нормальных биохимических показателей.

Для студентов медицинских и фармацевтических вузов

УДК 616-071:577.1(075.8)
ББК 53.4я73

ISBN 978-5-9986-0045-6

© **Строев Е.А.**, Макарова В.Г.,
Матвеева И.В., 2012
© Оформление. ООО «Издательство
«Медицинское информационное
агентство», 2012

Все права защищены. Никакая часть дан-
ной книги не может быть воспроизведе-
на в какой-либо форме без письменного
разрешения владельцев авторских прав.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	10
ВВЕДЕНИЕ	12
1. Правила техники безопасности при работе в биохимической лаборатории	12
2. Материал и его подготовка для биохимических исследований	14
3. Основные методы разделения и выделения веществ при биохимических исследованиях	22
4. Основные приборы, используемые в практикуме	24
<i>Фотометрические приборы</i>	<i>25</i>
<i>Флуориметрические приборы</i>	<i>28</i>
<i>Центрифуги</i>	<i>28</i>
<i>Приборы для электрофореза</i>	<i>29</i>
5. Экспресс-тесты в биохимии	31
6. Применение единиц СИ для выражения результатов клинико-биохимических исследований	32
<i>Общие положения</i>	<i>32</i>
<i>Некоторые рекомендации по применению единиц СИ в клинико-биохимических исследованиях</i>	<i>35</i>
БЕЛКИ	38
1. Химическая природа простых белков	38
<i>Работа 1. Качественные (цветные) реакции на функциональные группы белков и аминокислот</i>	<i>39</i>
<i>Работа 2. Качественный анализ некоторых белковых препаратов</i>	<i>48</i>
<i>Работа 3. Хроматографический метод разделения аминокислот</i>	<i>49</i>
2. Исследование физико-химических свойств белков	52
<i>Работа 4. Диализ белков</i>	<i>53</i>
<i>Работа 5. Определение изоэлектрической точки белка</i>	<i>55</i>
<i>Работа 6. Исследование денатурации белков</i>	<i>57</i>
<i>Работа 7. Исследование высаливания белков (на примере белков сыворотки крови)</i>	<i>60</i>
3. Количественный анализ белков	62
<i>Работа 8. Количественное определение белка в сыворотке крови</i>	<i>63</i>
<i>Работа 9. Количественное определение белка в слюне биуретовым методом</i>	<i>66</i>

Работа 10.	Количественное определение белка в молоке ксантопротеиновым методом	68
4.	Состав и свойства сложных белков	70
Работа 11.	Химическая природа гемпротеинов	71
Работа 12.	Выявление углеводного компонента гликопротеинов	75
Работа 13.	Качественные реакции на фосфопротеины (на примере казеина молока)	78
Работа 14.	Количественное определение содержания сиаловых кислот в сыворотке крови методом Гесса	80
Работа 15.	Химическая природа нуклеопротеинов	81
НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ		85
1.	Исследование химической природы нуклеиновых кислот	85
Работа 16.	Качественные реакции на компоненты нуклеиновых кислот	85
2.	Количественные методы определения нуклеиновых кислот	88
Работа 17.	Спектрофотометрический метод количественного определения нуклеиновых кислот по А.С. Спирину	89
Работа 18.	Фотоколориметрические методы количественного определения нуклеиновых кислот	91
ЛИПИДЫ		94
Работа 19.	Исследование фосфолипидов	95
Работа 20.	Качественные реакции на стероиды	99
ФЕРМЕНТЫ		104
1.	Сравнительное действие ферментов и небιοлогических катализаторов	105
Работа 21.	Сравнение действия α-амилазы слюны и соляной кислоты на реакцию гидролиза крахмала	105
2.	Выявление ферментов, относящихся к разным классам	107
Работа 22.	Обнаружение оксидоредуктаз в биологическом материале	107
Работа 23.	Обнаружение холинэстеразы (ацетилхолин ацилгидролаза; КФ 3.1.1.7) в сыворотке крови экспресс-методом Херцфельда и Штумпфа	112
Работа 24.	Определение активности каталазы крови по методу Баха и Зубковой	113
Работа 25.	Выявление фруктозобисфосфат – альдолазы (D-фруктозо-1,6-бисфосфат-лиаза; D-глицеральдегид-3 фосфат-лиаза; КФ 4.1.2.13) в сыворотке крови	115
Работа 26.	Определение глюкозофосфат-изомеразы (D-глюкозо-6-фосфат кетол-изомеразы; КФ 5.3.1.9) в сыворотке крови	117
3.	Изучение кинетических свойств ферментов	119
Работа 27.	Кинетика ферментативных реакций на примере α-амилазы слюны	119

4. Специфичность действия ферментов	122
Работа 28. Демонстрация абсолютной субстратной специфичности уреазы (карбамидамидогидролаза; КФ 3.5.1.5)	122
Работа 29. Специфичность действия амилазы (α -1,4-глюкан-4-глюкангидролаза; КФ 3.2.1.1) и сахаразы (β -D-фруктофуранозид-фруктогидролаза; КФ 3.1.1.26)	124
5. Модификаторы активности ферментов	125
Работа 30. Активаторы и ингибиторы α -амилазы слюны	126
Работа 31. Действие конкурентных ингибиторов на сукцинатдегидрогеназу (сукцинат: акцептор оксиредуктаза; КФ 1.3.99.1) мышечной ткани	127
Работа 32. Неконкурентное ингибирование каталазы крови	128
Работа 33. Определение содержания ингибиторов протеолитических ферментов в слюне	129
6. Количественное определение активности ферментов	134
Работа 34. Количественное исследование активности препарата лактатдегидрогеназы по Корнбергу	137
Работа 35. Фотокolorиметрический метод исследования активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови по Севелу и Товареку	139
Работа 36. Определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови по Боданскому	142
Работа 37. Определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови унифицированным методом по Bessey O.A.	144
Работа 38. Определение активности кислой и щелочной фосфатазы в слюне по методу Боданского	145
Работа 39. Определение активности γ -глутамилтранспептидазы в сыворотке крови	147
7. Исследование изоферментов	148
Работа 40. Разделение изоферментов лактатдегидрогеназы сыворотки крови методом электрофореза в полиакриламидном геле по Дитцу и Лубрано	149
БИОХИМИЯ ПИЩЕВАРЕНИЯ	154
Работа 41. Исследование кислотных компонентов желудочного сока	154
Работа 42. Определение кислотности желудочного сока диагностическим набором «Ацидотест»	158
Работа 43. Гидролиз белка ферментами пищеварительного тракта	159
Работа 44. Изучение динамики гидролиза триацилглицеринов под действием панкреатической липазы	162
Работа 45. Определение активности α -амилазы в смешанной слюне	164

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН (БИОЭНЕРГЕТИКА)	167
1. Исследование процессов биологического окисления в животных тканях	168
<i>Работа 46. Обнаружение цитохромоксидазы в мышечной ткани</i>	168
<i>Работа 47. Демонстрация процесса окислительного фосфорилирования и действия на него разобщителей</i>	170
<i>Работа 48. Выявление гликолиза в мышечной ткани</i>	174
<i>Работа 49. Анализ адениннуклеотидов методом ионообменной тонкослойной хроматографии</i>	177
<i>Работа 50. Определение активности креатинкиназы в сыворотке крови по Эннору и Розенбергу</i>	179
2. Анализ пигментов и окислительных процессов фотосинтезирующих организмов	183
<i>Работа 51. Качественные реакции на пигменты растений</i>	183
<i>Работа 52. Определение активности пероксидазы в растительном материале по методу А.Н. Бояркина</i>	185
ОБМЕН УГЛЕВОДОВ	189
<i>Работа 53. Определение содержания глюкозы в крови о-толуидиновым методом</i>	189
<i>Работа 54. Количественное определение содержания глюкозы в крови глюкозооксидазным методом</i>	191
<i>Работа 55. Определение содержания молочной кислоты в крови по Баркеру и Саммерсону</i>	192
<i>Работа 56. Определение содержания пировиноградной кислоты в крови по Фридеману и Хаугену</i>	195
ОБМЕН ЛИПИДОВ	197
<i>Работа 57. Определение содержания суммарных липидов в сыворотке крови по реакции с сульфифосфованилиновым реактивом</i>	197
<i>Работа 58. Определение содержания β- и пре-β-липопротеинов сыворотки крови турбидиметрическим методом по Бурштейну и Самай</i>	200
<i>Работа 59. Определение содержания холестерина в сыворотке крови по методу Илька</i>	201
<i>Работа 60. Определение содержания холестерина α-липопротеинов</i>	202
<i>Работа 61. Определение содержания общих фосфолипидов в сыворотке крови</i>	204
<i>Работа 62. Разделение липидов сыворотки крови методом тонкослойной хроматографии</i>	206
ОБМЕН БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ	208
<i>Работа 63. Определение содержания белковых фракций сыворотки крови турбидиметрическим методом</i>	208
<i>Работа 64. Определение активности катепсинов в сыворотке крови по А.А. Покровскому, А.И. Арчакову и О.Н. Любимцевой</i>	211

Работа 65.	Определение активности аспарат- и аланинаминотрансферазы в сыворотке крови по Райтману и Френкелю	213
Работа 66.	Определение активности гистидазы в сыворотке крови по Табору и Мелеру в модификации В.А. Бурбина.....	215
Работа 67.	Определение содержания свободного гидроксипролина в моче по Нейману и Логану в модификации П.Н. Шараева	218
ОБМЕН АЗОТСОДЕРЖАЩИХ НЕБЕЛКОВЫХ ВЕЩЕСТВ.....		221
1. Исследование общих продуктов азотистого обмена		221
Работа 68.	Количественное определение остаточного азота в крови фотокolorиметрическим методом	222
Работа 69.	Количественное определение мочевины в сыворотке крови, моче и слюне	225
Работа 70.	Количественное определение креатина и креатинина по методу Брауна	228
2. Изучение обмена нуклеиновых кислот и нуклеотидов.....		230
Работа 71.	Определение активности кислой дезоксирибонуклеазы (ДНКазы) в сыворотке крови по А.А. Покровскому, А.И. Арчакову и О.Н. Любимцевой.....	230
Работа 72.	Определение содержания мочевой кислоты в сыворотке крови по методу Мюллера и Зейферта.....	232
3. Исследование порфиринового (пигментного) обмена		234
Работа 73.	Определение билирубина и его фракций в сыворотке крови по Йендрашику, Клеггорну и Грофу	234
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПАТОЛОГИЯ.....		237
1. Экспресс-диагностика патологии аминокислотного обмена		237
Работа 74.	Выявление гипераминоацидурии	237
Работа 75.	Экспресс-методы диагностики фенилкетонурии	239
Работа 76.	Диагностика тирозиноза пробой Миллона на тирозин и 4-гидроксифенилпировиноградную кислоту	242
Работа 77.	Выявление алкаптонурии пробой на гомогентизиновую кислоту.....	243
Работа 78.	Выявление цистинурии йод-азидной пробой на цистин и гомоцистин в моче	245
2. Экспресс-диагностика патологий углеводного обмена		246
Работа 79.	Выявление пентозурии пробой Биаля.....	246
Работа 80.	Выявление фруктозурии пробой Селиванова.....	246
Работа 81.	Выявление мукополисахаридозов пробой с толудиновым синим на мукополисахариды	247
3. Диагностика патологии порфиринового обмена		248
Работа 82.	Определение содержания порфириногена в моче	249
Работа 83.	Количественное определение содержания дельта-аминолевулиновой кислоты в моче	250

Работа 84. Количественное определение содержания копропорфирина в моче по методу Соулсби в модификации Римингтона	252
РЕГУЛЯТОРЫ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ	255
1. Исследование витаминов	255
Работа 85. Качественные реакции на витамины	255
Работа 86. Определение содержания тиамина и рибофлавина флуориметрическим методом	259
1. Определение содержания витаминов B_1 и B_2 в поливитаминных препаратах	260
2. Определение содержания витаминов B_1 и B_2 в моче	262
3. Определение содержания витаминов B_1 и B_2 в пищевых продуктах	263
Работа 87. Количественное определение аскорбиновой кислоты.....	264
Работа 88. Определение содержания витамина Р в различных сортах чая.....	269
2. Исследование гормонов, медиаторов и их метаболитов	271
Работа 89. Качественные реакции на белково-пептидные гормоны	271
Работа 90. Качественные реакции на гормоны – производные аминокислот	272
Работа 91. Качественные реакции на стероидные гормоны и их метаболиты	275
Работа 92. Регуляция инсулином и адреналином уровня глюкозы в крови животных	277
Работа 93. Количественное определение гистамина в крови с диазотированным п-нитроанилином по Н.В. Климкиной и С.И. Плитману.....	279
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ	282
1. Биохимическое исследование крови	283
Работа 94. Определение содержания гемоглобина в крови по его светопоглощению	283
Работа 95. Определение содержания фетального гемоглобина в эритроцитах крови человека	284
Работа 96. Определение содержания гликозилированного гемоглобина в эритроцитах крови фотоколориметрическим методом	286
Работа 97. Определение концентрации гаптоглобина в сыворотке крови фотоколориметрическим методом	288
Работа 98. Проба Вельтмана в модификации Тейфеля на коллоидную устойчивость белков сыворотки крови	290
Работа 99. Тимоловая проба по Хуэргу и Поппер	291
Работа 100. Сулемово-осадочная реакция (сулемовая проба по Гринседту).....	293
Работа 101. Определение активности α -амилазы в сыворотке крови амилокластическим методом.....	294
Работа 102. Определение содержания кальция в сыворотке крови мурексидным методом.....	296

Работа 103.	Количественное определение содержания железа в сыворотке крови.....	297
2.	Биохимическое исследование мочи	299
Работа 104.	Исследование физико-химических свойств мочи	300
Работа 105.	Определение кетоновых тел и глюкозы в моче.....	302
Работа 106.	Определение белка в моче по методу Брандербера—Робертса—Стольникова	304
Работа 107.	Качественное определение индикана в моче	305
Работа 108.	Обнаружение некоторых пигментов в моче	306
Работа 109.	Определение компонентов мочи с помощью диагностических полосок ФАН	307
3.	Биохимическое исследование тканей зуба и слюны	310
Работа 110.	Определение содержания кальция в твердых тканях зуба и слюне	310
Работа 111.	Определение содержания неорганического фосфора в зубе и слюне	312
Работа 112.	Определение содержания железа в смешанной слюне	315
МЕТАБОЛИЗМ КСЕНОБИОТИКОВ		317
1.	Исследование процессов окисления и конъюгации ксенобиотиков	318
Работа 113.	Выявление дыхательной активности микросом	318
Работа 114.	Исследование окислительного N-деметилирования в микросомах печени по Нашу	320
Работа 115.	Определение гидроксилазной активности микросом печени по Като и Жилете.....	323
Работа 116.	Метод оценки активности монооксигеназ эндоплазматической сети клеток печени по выделению метаболитов амидопирина с мочой по Т.А. Попову и О.Д. Леоненко.....	327
Работа 117.	Определение активности алкогольдегидрогеназы в сыворотке крови по Шкурски и др. с дополнениями И.В. Бокия, М.С. Усатенко и В.Ф. Трюфанова	332
Работа 118.	Определение ацетилирующей способности организма по выделению с мочой свободной и ацетилированной форм сульфаниламидов по А.М. Тимофеевой в модификации Г.А. Пономарева	335
Работа 119.	Выявление ацетилирования (инактивации) гидразида изоникотиновой кислоты (ГИНК) в организме	338
2.	Исследование пероксидного окисления липидов биологических мембран ..	339
Работа 120.	Определение чувствительности эритроцитов к пероксидному гемолизу.....	344
Работа 121.	Определение скорости пероксидного окисления липидов в биомембранах.....	348
ПРИЛОЖЕНИЕ		354
1.	Некоторые биохимические показатели жидких сред организма	354
2.	Приготовление буферных растворов	363
3.	Приготовление некоторых реактивов	365